

10/532/5

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION  
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété  
Intellectuelle  
Bureau international



(43) Date de la publication internationale  
21 mai 2004 (21.05.2004)

PCT

(10) Numéro de publication internationale  
**WO 2004/041241 A2**

(51) Classification internationale des brevets<sup>7</sup> : **A61K 9/00**

(21) Numéro de la demande internationale :  
PCT/FR2003/003221

(22) Date de dépôt international :  
29 octobre 2003 (29.10.2003)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :  
0213623 30 octobre 2002 (30.10.2002) FR

(71) Déposant (*pour tous les États désignés sauf US*) : STAT-ICE SANTE [FR/FR]; 9 RUE EDISON, F-25000 BESANCON (FR).

(71) Déposant et

(72) Inventeur : PELISSIER, Edouard [FR/FR]; DOMAINE DU CHATEAU, F-25870 DEVCEY (FR).

(74) Mandataires : NEVANT, Marc etc.; CABINET BEAU DE LOMENIE, 158 RUE DE L'UNIVERSITE, F-F-75340 PARIS Cedex 07 (FR).

(81) États désignés (*national*) : AE, AG, AL, AM, AT (modèle d'utilité), AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ (modèle d'utilité), CZ, DE (modèle d'utilité), DE, DK (modèle d'utilité), DK, DM, DZ, EC, EE (modèle d'utilité), EE, EG, ES, FI (modèle d'utilité), FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK (modèle d'utilité), SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84) États désignés (*regional*) : brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

## Publiée :

— sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport

*En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.*

**WO 2004/041241 A2** (54) Title: IMPLANTABLE STRUCTURE FOR PROLONGED AND CONTROLLED RELEASE OF AN ACTIVE PRINCIPLE

(54) Titre : STRUCTURE IMPLANTABLE POUR LA LIBÉRATION PROLONGÉE ET CONTRÔLÉE D'UN PRINCIPE ACTIF

(57) Abstract: The invention concerns an implantable structure of flexible consistency for the prolonged and controlled release of an active principle, consisting of a bioresorbable carrier and an active principle, wherein the bioresorbable carrier is formed by a material comprising an aliphatic polyester of therapeutic interest as main constituent. The invention also concerns a method for making said structure.

(57) Abrégé : L'invention concerne une structure implantable de consistance souple pour la libération prolongée et contrôlée d'un principe actif, constituée d'un support biorésorbable et d'un principe actif, dans laquelle le support biorésorbable est formé d'un matériau qui comprend un polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique à titre de composant principal. L'invention concerne également un procédé de fabrication de cette structure.

Structure implantable pour la libération prolongée et contrôlée d'un principe actif

La présente invention concerne une structure implantable biorésorbable permettant la libération contrôlée d'un principe actif au niveau d'une lésion intracorporelle, notamment d'une incision chirurgicale, ainsi qu'un procédé de 5 fabrication d'une telle structure.

L'invention trouve application dans le domaine médical et chirurgical.

Le traitement de la douleur, notamment en milieu hospitalier et en particulier après une intervention chirurgicale, est actuellement de plus en plus au cœur des préoccupations du personnel médical.

10 La douleur post-opératoire est due à la stimulation directe, par le traumatisme chirurgical, des terminaisons nerveuses libres, présentes dans tous les tissus et à la libération par les tissus traumatisés de substances algogènes, qui entretiennent la douleur par stimulation directe des terminaisons nerveuses et par abaissement du seuil d'activation des récepteurs nociceptifs.

15 Le traitement de la douleur post-opératoire par les antalgiques n'est qu'un traitement symptomatique, qui atténue la perception de la douleur au niveau des centres nerveux, sans agir à la source.

Les anesthésiques locaux ont une action directe au niveau des terminaisons nerveuses, ils interrompent totalement la transmission de la douleur par les fibres 20 nerveuses. Leur efficacité est telle que l'on peut inciser et opérer au niveau d'une zone infiltrée par l'anesthésie locale.

Il a été démontré que l'infiltration de la plaie en fin d'intervention par un anesthésique local supprime efficacement la douleur post-opératoire, mais l'effet cesse avec la résorption du produit au bout de quelques heures (1-5).

25 D'autres études (6-10) ont confirmé l'intérêt de la méthode d'irrigation continue de la plaie par un anesthésique local au moyen d'un cathéter.

Cette méthode, si elle est efficace, présente toutefois l'inconvénient de comporter un appareillage encombrant qui limite l'activité et annule donc l'avantage de la réduction de douleur.

30 Le brevet US 6,063,405 concerne la préparation d'un système de délivrance à libération prolongée d'un principe actif, tel qu'un anesthésique, formé d'une matrice de polymère en suspension ou en solution dans l'eau, et destiné à être injecté.

On connaît par ailleurs, d'après la demande de brevet WO 00 50004 une composition sous forme de gel ou d'une solution à faible viscosité à température ambiante, pour l'administration d'un anesthésique local lors d'une opération chirurgicale et notamment en chirurgie urologique.

5 Ce système et cette composition n'ont toutefois qu'un effet limité dans le temps.

L'invention vise à remédier à ces inconvénients, et à mettre à disposition une structure qui permette la libération progressive et contrôlée d'un principe actif au niveau d'une incision intracorporelle.

Une telle structure doit pouvoir être mise en place rapidement et facilement lors  
10 du temps de réparation, par exemple après une incision chirurgicale. Elle doit également se résorber le plus rapidement possible.

Ainsi, selon un premier aspect, l'invention concerne une structure implantable de consistance souple pour la libération prolongée et contrôlée d'un principe actif, constituée d'un support biorésorbable et d'un principe actif, ledit principe actif étant  
15 intimement associé au support.

Le fondement de la présente invention réside donc dans le fait que la structure implantable possède une consistance souple et présente une cohésion (imbrication) entre le principe actif et le matériau du support biorésorbable induite par mouillabilité d'un des composants de la structure.

Conformément à l'invention, le support biorésorbable comprend à titre de composant principal un polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique, c'est-à-dire qui est biocompatible, biorésorbable, bien toléré et qui n'entraîne pas d'effets adverses comme irritation locale, réaction allergique, réaction immunologique, toxicité systémique. A titre d'exemples de tels polyesters, on peut citer les poly( $\alpha$ -hydroxyacides) dérivés des acides lactique (LA) et/ou glycolique (GA), et particulièrement les copolymères d'acide lactique et d'acide glycolique désignés sous la forme  $PLA_xGA_y$  ( $x$  et  $y$  pouvant varier dans l'intervalle 0 à 100 et précisant respectivement les pourcentages des unités d'acides lactique et glycolique). Cette notation peut, de plus, préciser la forme diastéréoisomère de l'unité d'acide lactique  
25 (D, L, DL).

On préfèrera généralement des matériaux à structure amorphe et à poids moléculaire peu élevé.

Avantageusement, on utilise un copolymère DL PLA-GA dans lequel le rapport massique entre les unités d'acides lactique et glycolique est compris dans la gamme de environ 80/20 à 20/80, de préférence 70/30 à 30/70. Un copolymère tout particulièrement préféré est celui comprenant des proportions égales en acides lactique et glycolique.

5 Dans la famille des polyesters aliphatiques d'intérêt thérapeutique, on peut citer également la poly- $\epsilon$  caprolactone (PCL), qui présente une structure semi-cristalline (taux de cristallinité voisin de 56 %), les polyorthoesters, ainsi que les poly-p dioxanone (DS) ou le polytriméthylène carbonate (TMC). De plus, des mélanges en toutes proportions de 10 ces différents polymères, comme un mélange PCL/PLA<sub>x</sub>GA<sub>y</sub> peuvent être envisagés.

La structure implantable selon l'invention présente une bonne souplesse. Par « souplesse », on entend au sens de la présente invention que la Tg (température de transition vitreuse) du matériau support est inférieure ou égale à environ 15°C et peut de ce fait être manipulée aisément et sans présenter de rupture préjudiciable lors de la 15 mise en place dans la plaie opératoire.

Cette souplesse est une caractéristique des matériaux polymères à propriétés dites viscoélastiques. Elle traduit, pour un même matériau porté à des températures T la transition en fonction de T entre des structures dites "rigides – élastiques" pour des températures inférieures à la température de transition vitreuse (T < Tg) et des 20 structures dites "élastiques – caoutchoutiques" pour des températures supérieures à la température de transition vitreuse (T > Tg). Cette propriété est couramment étudiée à l'aide de viscoélasticimètres où la transition citée est définie par la variation caractéristique, en fonction de la température, d'un module élastique de type module d'Young ou module de cisaillement.

25 Lorsque le polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique est un copolymère d'acide lactique et d'acide glycolique, pour lequel la Tg est proche de la température ambiante, la souplesse du matériau support est ajustée de manière bien connue de l'homme du métier par l'adjonction d'un plastifiant biocompatible. A titre d'exemple, on peut citer en particulier l'acide lactique, les oligomères d'acide lactique notés couramment (OLA), et les mélanges de ces composés. On peut également citer tous 30 les produits biotolérés de la famille des alcools, des polyoxydes d'éthylène, des polyéthylèneglycols, des citrates, qui présentent un paramètre de solubilité voisin de celui du polymère du support de la structure implantable. Le plastifiant est

généralement ajouté en une quantité comprise dans la gamme de environ 0,5 % à 20 % en masse, de préférence de 5 à 15 % en masse, par rapport à la masse du support.

5 Lorsque le polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique est la poly( $\epsilon$ -caprolactone), les cinétiques de libération et de déstructuration de la structure implantable doivent être augmentées par l'adjonction de matériaux hydrosolubles.

Il peut s'agir d'additifs de faible masse molaire comme les sels (chlorure de sodium, phosphate de sodium) ou les sucres (sucrose, lactose) ou ceux choisis dans la grande famille des tensio-actifs (lauryl sulfonate ou sulfate de sodium par exemple). Il 10 peut s'agir aussi et préférentiellement de polymères hydrophiles (polyoxyde d'éthylène (POE), polyéthylène glycol (PEG), alcool polyvinyle (PVA)) ou de polysaccharides tels que ceux commercialisés sous la dénomination DEXTRAN® ( $\alpha$ -1,6 glucane) ou PLURONIC®, ou de dérivés cellulosiques (méthylcellulose, hydroxypropylcellulose).

La quantité de matériau hydrosoluble ajoutée doit rester limitée à environ 20 % 15 en masse et préférentiellement être comprise dans la gamme de environ 2 à 10 % en masse, par rapport à la masse du support.

Le principe actif qui peut être utilisé dans le cadre de l'invention n'est pas limité à un principe actif particulier, et peut être avantageusement choisi parmi les anesthésiques locaux, les antalgiques morphiniques ou non morphiniques, les facteurs 20 de cicatrisation, les anti-inflammatoires, les antibiotiques, les anti-fongiques, les corticoïdes, les hormones, les antimitotiques, les facteurs de croissance. Un mélange de principes actifs est de plus possible afin de :

- moduler l'efficacité temporelle des principes actifs,
- assurer différentes fonctions thérapeutiques cumulatives.

25 On peut ainsi concevoir l'apport d'anti-inflammatoires ou de corticoïdes au niveau ou au voisinage d'une articulation, de substances antiseptiques et/ou cicatrisantes au niveau d'une plaie chronique, d'antimitotiques au niveau d'une tumeur inextirpable ou de métastases, ou de substances stimulantes au niveau d'une structure nerveuse.

De manière particulièrement préférée, le principe actif est un anesthésique local 30 comme par exemple la lidocaïne, la bupivacaïne, la benzoïne, la tétracaïne, la mepivacaïne, la ropivacaïne. On peut ajouter à l'anesthésique local une substance capable de prolonger son action, comme la clonidine ou le fentanyl.

La quantité de principe(s) actif(s) ne dépasse généralement pas 60 % de la masse du support et varie en fonction de la nature même du principe actif et du but thérapeutique recherché.

La structure biodégradable conforme à l'invention peut être implantée au niveau 5 des plans de suture de tissus incisés, et permet un apport *in situ* de principe actif à une concentration définie, pendant une durée spécifique au but thérapeutique recherché.

Cette structure résiste à la stérilisation et au stockage sous différentes conditions climatiques.

10 Dans le cas où le principe actif est un anesthésique local, la structure implantable selon l'invention permet de supprimer ou réduire au minimum la douleur, et tout particulièrement la douleur post-opératoire, avec tous les avantages qui en découlent : confort idéal pour le patient, réduction au minimum des soins post-opératoires, réduction du risque thrombo-embolique par la reprise précoce de la marche, 15 raccourcissement de la durée d'hospitalisation et donc des coûts. Elle favorise également la pratique de la chirurgie ambulatoire et une reprise d'activité rapide du patient.

La structure implantable selon l'invention est fabriquée au moyen d'un procédé 20 thermo-mécanique de mise en forme, qui permet d'obtenir une cohésion (imbrication) entre le principe actif et le matériau du support biorésorbable induite par mouillabilité d'un des composants de la structure.

Lorsque le principe actif est soumis à un passage par une phase liquide, qui 25 induit cette mouillabilité, lors de l'élévation de température au dessus de son point de fusion imposé par une des étapes du procédé de fabrication, la cohésion recherchée est implicite.

Lorsque le principe actif conserve sa forme solide tout au long du procédé de fabrication, c'est le matériau du support qui doit être soumis à un passage par une phase liquide voire visqueuse lors du procédé de fabrication.

Le principe actif et le matériau du support peuvent tous deux subir 30 concomitamment ce changement de phases si la température de fusion du principe actif et la température de transition vitreuse ou de fusion du matériau support, sont voisines.

Ledit changement de phases, pour obtenir l'imbrication recherchée, est généralement réalisé dans une chambre dite "chambre de transfert".

Ainsi, selon un second aspect, l'invention concerne un procédé de fabrication de la structure implantable décrite ci-dessus, qui comprend les étapes suivantes :

- 5      a) un mélange homogène des produits composant la structure,
- b) un passage partiel ou total du mélange ainsi obtenu à l'état liquide et/ou visqueux, avec ou sans pression appliquée, dans une chambre de transfert, et
- c) une mise en forme de la structure implantable sous pression à partir de cet état intermédiaire.

10     Ces différentes étapes peuvent être complétées si nécessaire par un traitement thermique final.

      A l'étape a), les produits initialement à l'état solide sont avantageusement soumis au préalable à un traitement de dessiccation.

15     Le changement de phases est réalisé à l'étape b). Ce changement de phases est de type :

- solide – liquide dans le cas où il est induit préférentiellement par le principe actif seul ou le matériau support seul,
- solide - visqueux ou solide – visqueux – liquide dans le cas où il est induit préférentiellement par un matériau polyester aliphatique amorphe ou, respectivement, semi-cristallin,
- liquide – liquide lorsqu'il est induit par la fusion concomitante du principe actif et du matériau support.

20     A l'issue du procédé, les produits mis en forme sont démoulés, de préférence sur sole réfrigérée.

25     On comprend donc que le procédé de l'invention ne fait pas intervenir de solvant dans les différentes étapes indiquées ci-dessus.

      Lorsque la différence entre la température de fusion ( $T_f$ ) du principe actif et la température de transition vitreuse ou de fusion du polyester aliphatique (suivant sa nature amorphe ou semi-cristalline) est importante, le changement de phases de l'étape b) s'opère avantageusement à une température comprise entre la  $T_f$  du principe actif et la  $T_g$  ou  $T_f$  du polyester aliphatique, de préférence à une température proche de la  $T_f$  du principe actif.

Lorsque la différence entre la Tf du principe actif et la Tg ou la Tf du polyester aliphatique est faible (environ de l'ordre de 10 à 15°C au plus), le changement de phases de l'étape b) s'opère avantageusement à une température supérieure à la fois à la Tf du principe actif et à la Tg ou la Tf du polyester aliphatique.

5 Le procédé conforme à l'invention permet d'obtenir une structure composite homogène avec des interfaces cohérentes (c'est-à-dire sans décohésion interfaciale), qui présente de plus un point de fusion ou de transition vitreux bas (inférieur à celui du polyester aliphatique).

A titre d'exemple de procédé conforme à l'invention, on peut citer ceux décrits  
10 notamment dans « La mise en forme des matières plastiques : J.F. AGASSANT, P. AVENAS, J.Ph. SERGENT, Ed. Lavoisier, 1989 » ou dans « Matières plastiques : J.P. TROTIGNON, J. VERDU, A. DOBRACZYNISKI, M. PIPERAUD, Ed. Nathan 1996 », en particulier les procédés de type :

- moulage par compression-transfert,
- 15 - moulage par injection-transfert,
- extrusion ou filage avec étape préliminaire de transfert.

De préférence, on utilise le procédé du type moulage par compression – transfert, qui est un procédé consistant à introduire sous pression un matériau dans un état de fluidité donné à l'intérieur de la cavité d'un moule et qui se décompose  
20 classiquement en quatre étapes :

- la plastification : la matière, introduite préalablement dans un creuset, est amenée partiellement ou totalement par chauffage à un état fluide et homogène (changement de phases),
- l'injection : un piston permet l'introduction de cette matière fluidisée dans le moule,
- 25 - la conformation : la matière peut alors être conformée dans le moule avec une cinétique de durcissement rapide,
- le démoulage final.

Avantageusement, la granulométrie du mélange des produits de départ est contrôlée dans la gamme comprise entre environ 5 et 150 µm, de préférence entre  
30 environ 10 et 50 µm. En règle générale, l'utilisation de broyeurs mécaniques ou de broyeurs à jet d'air est conseillée. De plus, il est recommandé de travailler dans des domaines de températures de mise en forme où le principe actif conserve son intégrité structurale et ses propriétés thérapeutiques.

Le moulage par injection – transfert procède de la même démarche expérimentale. L'extrusion – transfert est par ailleurs une technologie connue.

La morphologie des structures implantables peut être variée et conduire à la fabrication de fils, de films, de joncs, de rubans (notamment de forme 5 parallélépipédique base carrée ou rectangle), de mèches, de tissus tissés ou non-tissés, de plaques, de cathéters ou de comprimés voire de tablettes. On peut concevoir une autre forme, par exemple un film qui pourrait être appliqué dans les chirurgies mammaires ou la chirurgie anale ainsi que le traitement des brûlures et autres lésions cutanées. On peut également envisager une structure où le(s) principe(s) actif(s) 10 serai(en)t incorporé(s) dans un fil de suture.

Différentes structures selon l'invention sont représentées sur les figures 1A (ruban), 1B (ruban ondulé) et 1C (jonc).

De plus, des structures composites mixtes comprenant la structure implantable selon l'invention, peuvent être élaborées dans le but d'obtenir plusieurs cinétiques de libération complémentaires, par exemple une cinétique de libération importante dans 15 les premières heures qui suivent l'acte chirurgical, suivie d'une cinétique de libération retardée ensuite.

La morphologie spécifique en résultant est classiquement effectuée via la réalisation de structures sandwich telle que celle représentée sur la figure 2.

20 Avantageusement, la surface d'échange du produit biorésorbable avec le liquide interstitiel peut être augmentée pour accélérer sa biodégradabilité et favoriser ainsi la perméation aux fluides et au principe actif, en réalisant par exemple des structures à forme géométrique définie (cylindre, parallélépipède) avec une topographie superficielle présentant des ondulations ou des rugosités de surface formées de 25 dessins géométriques répétitifs ou aléatoires dans le but d'augmenter la surface spécifique des structures implantables.

Le site d'insertion de la structure implantable est fonction du type de lésion ou d'incision :

Les figures 3 et 4 représentent schématiquement une laparotomie médiane : la 30 structure implantable (1) est placée longitudinalement, dans le sens de l'incision, entre le plan de suture du péritoine (2) et celui de l'aponévrose (3), dans l'espace pré-péritonéal.

La figure 5 représente schématiquement une laparotomie transversale : la structure implantable (1) est placée dans la loge musculaire, à la face profonde du plan de suture aponévrotique (2).

La figure 6 représente schématiquement une herniorraphie : un morceau de 5 l'implant (1) est placé à la face profonde de l'aponévrose du grand oblique (2) et un autre (11) au bord inférieur du cordon spermatique (3), au contact du plan de suture profond (4) et du rameau génital du nerf génito-crural (5). La figure 7 est une coupe antéro-postérieure de la représentation de la figure 6.

Pour d'autres types d'incisions, au niveau des membres ou du thorax, l'implant 10 sera généralement placé au contact des sutures musculaires ou aponévrotiques.

Pour les stripplings de varices, il peut être attiré par le stripper dans le trajet du stripping où il sera laissé en place.

D'autres formes adaptées à différents types de chirurgie peuvent être conçues ultérieurement, notamment sous forme de film pour de grands décollements 15 cellulaires.

L'homme de métier comprendra aisément à la lecture de la présente description que les dimensions de la structure implantable ainsi que la quantité de principe actif à incorporer à cette structure dépendront de la nature de l'application envisagée.

La quantité de principe actif libéré dépend de la masse de support biorésorbable 20 et de la concentration initiale de ce principe actif dans le support.

A titre indicatif, pour le traitement de la douleur post-opératoire, la quantité d'anesthésique local de type lidocaïne est d'environ 3 g dans le but de libérer d'une manière continue au maximum environ 600 mg par vingt quatre heures de ce produit sur cinq jours.

25 Cette quantité peut être diminuée en fonction de la plus grande activité reconnue de certains anesthésiques locaux, comme la bupivacaïne, la mepivacaïne, la ropivacaïne.

A titre indicatif, les implants conformes à l'invention ont généralement une longueur comprise entre 3 et 25 cm et de préférence voisine de 7 cm, grandeur qui 30 convient pour beaucoup d'incisions courantes. Si, pour des interventions plus importantes, nécessitant des incisions de 15 à 20 cm, on souhaite libérer la même dose quotidienne d'anesthésique local pendant la même durée et que la composition de l'implant est la même, il faut évidemment réduire ses deux autres dimensions :

- pour un implant de 14 cm de longueur et 0,22 cm d'épaisseur, à masse et à volume égaux, la largeur doit être de 0,75 cm. On peut également utiliser deux implants de 7 x 0,22 x 0,75 cm.
- pour un implant de 21 cm de longueur et 0,22 cm d'épaisseur, la largeur doit être de 0,5 cm. On peut également utiliser trois implants de 7 x 0,22 x 0,5 cm.

5

On peut également augmenter la longueur de l'implant, ce qui offre la possibilité d'un volume plus grand pour une épaisseur et une largeur du même ordre que dans l'exemple de base, pour libérer plus de produit actif. Dans ce cas, on modifie bien évidemment la composition de l'implant en conséquence.

10 L'invention sera décrite plus en détail à l'aide des exemples ci-après, donnés à titre purement illustratif.

#### **EXEMPLE 1 : Influence de l'ajout d'un plastifiant sur la Tg**

Le Tableau 1 ci-après regroupe les températures de transition vitreuse (Tg) et de fusion (Tf) de deux polymères utilisables comme support biorésorbable dans le cadre de l'invention : du PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub>, matériau amorphe intrinsèquement biodégradable, et de la PCL, matériau semi-cristallin considéré comme difficilement biodégradable.

15 Les différences de valeurs de Tg relevées sur les PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> sont liées à leur composition nominale et en particulier à leur masse moléculaire (75000 g/mol pour le copolymère commercialisé par la Société PURAC, 65000 g/mol pour le copolymère commercialisé par la Société MEDISORB).

20 En règle générale pour chaque lot de PLAGA, la valeur de la Tg est systématiquement évaluée.

**Tableau 1**

Matériau	Tg (°C)	Tf (°C)
<b>PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> (MEDISORB)</b>	31	
<b>PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> (PURAC)</b>	45	
<b>PCL</b>	-60	60

Le Tableau 2 donne les valeurs de Tg (°C) des copolymères PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> additionnés de 5, 10 ou 15% en masse d'acide lactique.

**Tableau 2**

<b>% d'acide lactique</b>	<b>PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> (MEDISORB)</b>	<b>PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> (PURAC)</b>
<b>0</b>	31	45
<b>5</b>	20	41
<b>10</b>	15	20
<b>15</b>	3	16

Les résultats des Tableaux 1 et 2 montrent d'une part que la PCL permet  
 5 d'obtenir sans ajout complémentaire un support souple à température ambiante, et  
 d'autre part qu'il est possible de contrôler la « souplesse » du PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> à température  
 ambiante par addition d'un plastifiant.

**EXEMPLE 2 : Optimisation des conditions de mise en forme de structures  
 10 biorésorbables**

Le but de cet exemple est la fabrication d'un ruban de forme parallélépipédique permettant de libérer théoriquement d'une manière contrôlée une quantité de principe actif de 500 mg/j pendant 3 jours soit au total 1500 mg.

Il a été vérifié en préalable qu'il était possible d'incorporer dans la structure  
 15 implantable, quel que soit le procédé de mise en forme retenu, environ 50% de principe actif dans 50% du matériau de support en conservant la souplesse recherchée.

Le poids total de l'implant est, dans ces conditions, de 3 g. Pour une densité moyenne  
 de l'implant estimée à 1,3, le volume de l'implant sera de 2,31 cm<sup>3</sup>. Ce volume  
 20 correspond par exemple à un parallélépipède de dimension :

longueur imposée : 7 cm

largeur imposée : 1,5 cm

épaisseur : 0,22 cm (2,2 mm)

La granulométrie des anesthésiques locaux présentant une dispersion en taille  
 25 généralement comprise dans l'intervalle 10-500 µm, il est nécessaire de procéder au préalable au broyage de ces produits pulvérulents suivi d'un passage à l'étuve (une

heure à 40°C par exemple), pour obtenir une granulométrie finale dans l'intervalle 10-50 µm.

A/ Les conditions opératoires générales suivantes ont été retenues pour le copolymère PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> pour obtenir cette morphologie particulière par moulage par compression –

5 transfert :

- température de plastification : 80°C-90°C,
- pression d'injection dans le moule : 60 bars-100 bars,
- refroidissement final sur plaque réfrigérante revêtue de téflon avant démoulage.

10 B/ Pour la poly( $\epsilon$ -caprolactone), les conditions de mise en forme par extrusion au moyen d'une extrudeuse monovis commercialisée par la Société SCAMIA sont respectivement de 65, 80 et 120°C et ce pour une vitesse d'étièvement exprimée en mètre par minute qui permet de recueillir les structures extrudées sur un tapis roulant défilant à la vitesse de 1 m/mn.

15 A titre indicatif, la viscosité de la PCL de masse moléculaire égale à 37000 g/mol a été déterminée à ces différentes températures (cf. tableau 3) et à l'aide d'un appareillage commercialisé par la Société HAAKE sous la dénomination RHEOSTRESS RS 150. Les essais sont descriptifs de la relation classique dite de NEWTON, reliant la contrainte appliquée  $\tau$  (exprimée en Pascal : Pa) à la vitesse de cisaillement  $\dot{\gamma} = d\gamma / dt$  (seconde<sup>-1</sup>, 20 s<sup>-1</sup>),  $\tau = \eta \dot{\gamma}$ . La viscosité  $\eta$  s'exprime en Pascal seconde (Pa.s).

Les expériences ont été conduites indifféremment à  $\dot{\gamma}$  imposée, dans l'intervalle 0,1 s<sup>-1</sup> à 200 s<sup>-1</sup> ou à  $\tau$  imposée, dans l'intervalle 1 Pa à 12000 Pa.

**Tableau 3**

T (°C)	$\tau$ imposée	$\dot{\gamma}$ imposée
65	1550	1600
80	980	980
120	360	350

25

L'augmentation de la température permet d'obtenir un matériau de moins en moins visqueux, donc de plus en plus fluide, et favorise de manière harmonieuse l'association entre le principe actif et le support.

**EXEMPLE 3 : Cinétiques in vitro de libération de lidocaïne à partir d'un implant à base de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub>**

Ces cinétiques ont été réalisées sur une masse de 3 g de ruban préparé selon les 5 conditions opératoires de l'exemple 2A/, pouvant libérer une quantité de 1500 mg de lidocaïne (fabrication par moulage par compression – transfert). Ce ruban est immergé sous agitation magnétique dans 500 ml de tampon PBS à pH=7,4, à la température de 37°C, le milieu d'immersion étant changé toutes les 24 h pour éviter une saturation de ce dernier en produit libéré.

10 Des compositions contenant respectivement en pourcentage en masse :

85% de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> et 15% d'acide lactique (85/15) ou

90% de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> et 10% d'acide lactique (90/10) ou

95% de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> et 5% d'acide lactique (95/5)

ont été testées.

15 Les valeurs des pentes des courbes de libération sont regroupées dans le tableau 4. La méthode de dosage in vitro de l'anesthésique libéré de la structure implantable est la spectrométrie UV (PERKIN ELMER Lambda 20). La raie caractéristique est située à la longueur d'onde égale à 263 nm. Le dosage est réalisé en mode continu ou discontinu en changeant le bain d'immersion toutes les 24 h.

20

**Tableau 4**

<b>Composition PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> / acide lactique</b>	<b>mg / 24 h</b>	<b>mg / 48 h</b>	<b>mg / 72 h</b>	<b>mg / 96 h</b>
<b>85/15</b>	600	900	1200	1500
<b>90/10</b>	500	900	1200	1500
<b>95/5</b>	450	800	1100	1400

Un traitement thermique préalable de l'implant à 40°C pendant 2 heures montre un comportement plus homogène de la cinétique de libération par période de 24 h de 25 l'ordre de 350 mg/24 h.

**EXEMPLE 4 : Cinétiques *in vitro* de libération de lidocaïne à partir d'un implant à base de PCL réalisé par extrusion**

A/ Poly( $\epsilon$ -caprolactone) (PCL), masse moléculaire = 37000 g/mol avec différents

5 pourcentages en lidocaïne.

Les essais correspondent à des mélanges constitués de :

essai 1 : 8 g de PCL + 2 g de lidocaïne

essai 2 : 6 g de PCL + 4 g de lidocaïne

essai 3 : 5 g de PCL + 5 g de lidocaïne

10 Ces essais sont réalisés selon les conditions opératoires de l'exemple 2B/, à la seule température de 80 °C.

En régime stationnaire, les valeurs des pentes des courbes : "concentration en lidocaïne en g/l en fonction du temps" sont reportées dans le tableau 5.

15

**Tableau 5**

<b>essai 1</b>	60 mg / 24h
<b>essai 2</b>	254 mg / 24h
<b>essai 3</b>	500 mg / 5h

B/ PCL, masse moléculaire = 37000 g/mol avec un pourcentage constant en lidocaïne.

L'extrusion à différentes températures d'implant composé d'une même quantité de PCL

(8 g) et de lidocaïne (2 g) conduit aux essais, réalisés selon les conditions opératoires

20 de l'exemple 2B/, dont les résultats sont consignés dans le tableau 6.

**Tableau 6**

Température d'extrusion (°C)	Pente
65	60 mg / 24 h
80	320 mg / 24 h
100	320 mg / 24 h
120	360 mg / 24 h

Il ressort du Tableau 6 que l'association optimisée entre le principe actif et le support

25 apparaît dès 80°C.

*C/ PCL, masse moléculaire = 37000 g/mol et PCL, masse moléculaire = 10000 g/mol avec un pourcentage constant en lidocaïne.*

Il a été utilisé un mélange de *PCL* de masse moléculaire 37000 g/mol avec de

l'oligomère du même matériau de masse moléculaire 10000 g/mol. Les essais

5 correspondant à des mélanges initiaux de :

essai 1 : 9 g de *PCL* (masse moléculaire 37000 g/mol) + 1 g de *PCL* (masse moléculaire 10000 g/mol) + 1 g de lidocaïne.

essai 2 : 8 g de *PCL* (masse moléculaire 37000 g/mol) + 2 g de *PCL* (masse moléculaire 10000 g/mol) + 1 g de lidocaïne.

10 essai 3 : 7 g de *PCL* (masse moléculaire 37000 g/mol) + 3 g de *PCL* (masse moléculaire 10000 g/mol) + 1 g de lidocaïne.

En régime stationnaire les valeurs des pentes des courbes de libération sont reportées dans le tableau 7.

15

**Tableau 7**

<b>essai 1</b>	63 mg / 24 h
<b>essai 2</b>	79 mg / 24 h
<b>essai 3</b>	72 mg / 24 h

*D/ PCL, masse moléculaire = 37000 g/mol et PCL, masse moléculaire = 10000 g/mol avec différentes concentrations en lidocaïne.*

20 Les essais complémentaires à ceux décrits au paragraphe C/ concernent :

essai 1 : 5 g de *PCL* (masse moléculaire 37000 g/mol) + 2 g de *PCL* (masse moléculaire 10000 g/mol) + 3 g de lidocaïne.

essai 2 : 5 g de *PCL* (masse moléculaire 37000 g/mol) + 3,5 g de *PCL* (masse moléculaire 10000 g/mol) + 1,5 g de lidocaïne.

25 Les résultats sont rassemblés dans le tableau 8.

**Tableau 8**

<b>essai 1</b>	300 mg / 24 h
<b>essai 2</b>	1000 mg / 24 h

**EXEMPLE 5 : Cinétique in vitro de libération de Bupivacaïne à partir d'un implant à base de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub>**

A partir d'un lot de quatre implants identiques de forme parallélépipédique base carrée de dimension 70 x 5 x 5 mm, de masse égale à 2,7 g contenant 50 % de Bupivacaïne,

5 il a été procédé à des tests complémentaires de libération de cet anesthésique local.

Ces tests ont été conduits par immersion de l'implant dans 500 cm<sup>3</sup> de tampon PBS (pH = 7,4) à la température de 37°C cette fois-ci en l'absence d'agitation magnétique.

L'agitation magnétique n'étant réalisée qu'au moment des dosages pour uniformiser le milieu liquide avant prélèvement d'une quote-part de celui-ci pour analyse.

10 La courbe de libération sur une période de 6 jours est montrée sur la figure 13 avec en complément un graphe précisant la quantité libérée par période de 24 heures (cf. figure 14).

Comme attendu, la libération est plus importante le premier jour et reste sensiblement de valeur constante les autres jours de l'essai.

15 Il a été constaté en complément qu'après une période d'immersion de 6 jours, les implants étaient complètement déstructurés.

**EXEMPLE 6 : Cinétique in vitro de libération d'un mélange d'anesthésiques locaux à partir d'un implant à base de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub>**

20 La même expérimentation que celle décrite dans l'exemple 5 a été conduite à partir d'un implant constitué au niveau de la concentration en anesthésiques locaux de :

- 5 % de Lidocaïne,
- 45 % de Bupivacaïne,
- 50 % de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub>.

25 Le graphe précisant la quantité libérée par période de 24 heures est montré figure 15. Il est noté une cinétique de libération moins conséquente que celle constatée dans l'exemple 5.

**EXEMPLE 7 : Cinétique in vitro de libération d'anesthésiques locaux à partir d'un implant à base de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> de structure "sandwich"**

30 A l'aide de la technique de moulage-transfert il a été procédé à la réalisation d'un implant de structure "sandwich" identique à celle présentée figure 2. La structure périphérique (l'enveloppe) est formée de deux rubans de 1,5 g présentant comme

matériau support un mélange 95/5 (massique) de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> et d'acide lactique et contenant en proportions relatives 25% en masse de lidocaïne. La structure interne (l'âme) est élaborée avec le même matériau support mais contient en proportions relatives 50% en masse de bupivacaïne.

5 Pour chaque structure de forme parallélépipédique (longueur 7 cm, largeur 1 cm, épaisseur 1 mm) le temps dans la chambre de transfert portée à 85°C est de 15 min. La pression de moulage sur plaque revêtue de téflon est de 65 bars. Le tableau 9 précise les données obtenues.

10

**Tableau 9**

<b>mg/24 h</b>	<b>mg/48 h</b>	<b>mg/72 h</b>
550	490	510

Une cinétique de libération quasi linéaire est constatée.

**EXEMPLE 8 : Cinétiques in vitro de déstructuration d'un implant constitué de PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> / acide lactique / bupivacaïne**

Le tableau 10 précise en final les cinétiques de déstructuration, dans du milieu PBS (pH=7,4) porté à 37°C, d'un implant élaboré par les techniques de moulage par compression – transfert de copolymère PLA<sub>50</sub>GA<sub>50</sub> / acide lactique / bupivacaïne (BPV). La quantité de bupivacaïne a été conservée constante et égale à 1,5 g pour un implant 20 de masse totale égale à 3 g.

**Tableau 10**

	<b>2 jours</b>	<b>4 jours</b>	<b>15 jours</b>
<b>85 / 15 / BPV</b>	matériau devenant de consistance molle	matériau diminuant de volume	solubilisation totale
<b>90 / 10 / BPV</b>	"	"	"
<b>95 / 5 / BPV</b>	"	"	solubilisation dès 10 jours d'immersion

Les mécanismes associés à cette cinétique de déstructuration ont été appréhendés via l'observation par microscopie électronique à balayage de coupes de rubans réalisées par cryofracture.

5 Le microscope utilisé est un microscope électronique à balayage à émission de champ (JEOL – 6400F) équipé d'une platine pour préparation de l'échantillon par cryofracture (OXFORD CT 1500 HF). Le protocole opératoire est le suivant :

- dans une chambre de congélation indépendante du microscope l'échantillon est immergé dans l'azote liquide et mis sous vide primaire ( $10^{-3}$  torr),
- 10 ▪ cet échantillon est ensuite transféré dans une chambre où règne un vide secondaire ( $10^{-6}$  torr),
- il subit une fracture à l'aide d'un système contondant,
- une sublimation de la glace pouvant se trouver sur l'échantillon est réalisée,
- un dépôt d'or (100 Å) est effectué sur l'échantillon fracturé,
- 15 ▪ le transfert sur la platine du microscope est réalisé en final sans remise à l'air.

Les données expérimentales suivantes ont ainsi été obtenues :

- en préalable, il a été vérifié que la densité du principe actif solide, (bupivacaïne dans l'exemple illustré) était homogène en surface et à cœur de l'échantillon, et que les interfaces entre le principe actif et le support polymère apparaissaient parfaitement cohérentes (figures 8A et 8B),
- 20 ▪ après un temps d'immersion de quelques heures (2 à 5 heures) dans le milieu PBS (pH = 7,4, T = 37°C), la présence de microporosités locales associables à la dissolution totale du principe actif positionné à la surface de l'implant est visualisée (figures 9A et 9B),
- 25 ▪ après un temps d'immersion de 9 heures, il est relevé une dissolution totale du principe actif positionné à la surface de l'implant (figure 10),
- après un temps d'immersion de 12 heures la dissolution du principe actif se poursuit pour atteindre progressivement le cœur du matériau (figure 11),
- 30 ▪ concomitamment, le nombre de microporosités et de nanoporosités dans le polymère s'accroît (figure 12).

Il apparaît ainsi que c'est la déstructuration locale du polymère par formation de porosités ouvertes qui favorise la solubilisation du principe actif et donc sa libération temporelle sous forme dissoute.

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

1. Nehra et al.. *Pain relief after inguinal hernia repair : a randomized double-blind study.* Br J Surg 1995 ; 82 : 1275-7.
5. Ding et al.. *Post-herniorraphy pain in outpatients after pre-incision ilioinguinal-hypogastric nerve block during monitored anaesthesia care.* Can J Anaesth 1995 ; 42 : 12-15.
10. Reid et al. *Day-case herniotomy in children. A comparison of ilio-inguinal nerve block and wound infiltration for postoperative analgesia.* Anaesthesia 1987; 42 : 658-61.
15. Lafferty et al. *A comparison of postoperative pain relief techniques in orchidopexy.* Ann R Coll Surg Engl 1990; 72 : 7-8.
5. Wright. *Controlled trial of wound infiltration with Bupivacaine for postoperative pain relief after appendicectomy in children.* Br J Surg 1993; 80 : 110-11.
15. Thomas et al. *The direct perfusion of surgical wounds with local anaesthetic solution : an approach to postoperative pain ?* Ann R Coll Surg Engl 1983; 65 : 226-9.
6. Levack et al. *Abdominal wound perfusion for the relief of postoperative pain.* Br J Anaesth 1986; 58 : 615-19.
20. Oakley et coll. *Randomized placebo-controlled trial of local anaesthetic infusion in day-case inguinal hernia repair.* Br J Surg 1998; 85 : 797-9.
9. Griffith et coll. *Prospective randomized study of a new method of providing postoperative pain relief following femoropopliteal bypass.* Br J Surg 1996; 83 : 1735-8.
25. 10. Fisher et Meller. *Continuous postoperative regional analgesia by nerve sheath block for amputation surgery. A pilot study.* Anaest Analg 1991; 72 : 300-3.

**REVENDICATIONS**

1. Structure implantable de consistance souple pour la libération prolongée et contrôlée d'un principe actif, constituée d'un support biorésorbable et d'un principe actif, dans 5 laquelle le principe actif est intimement associé au support, et dans laquelle le support biorésorbable est formé d'un mélange de copolymère d'acide lactique et d'acide glycolique et de environ 0,5 à 20 % en masse, de préférence de environ 5 à 15 % en masse par rapport à la masse du support, d'un plastifiant biocompatible choisi parmi l'acide lactique, un oligomère d'acide lactique, ou un mélange de ces composés, ledit 10 mélange de copolymère et de plastifiant ayant une Tg inférieure ou égale à 15°C.
2. Structure implantable selon la revendication 1, dans laquelle le copolymère d'acide lactique et d'acide glycolique a un rapport massique entre les unités d'acide lactique et d'acide glycolique compris dans la gamme de environ 80/20 à 20/80, de préférence 15 dans la gamme de environ 70/30 à 30/70, et de préférence encore égal à 50/50.
3. Structure implantable selon la revendication 1 ou 2, dans laquelle le principe actif est choisi parmi les anesthésiques locaux, les antalgiques morphiniques ou non morphiniques, les facteurs de cicatrisation, les anti-inflammatoires, les antibiotiques, 20 les anti-fongiques, les corticoïdes, les hormones, les antimitotiques, les facteurs de croissance, ou un mélange de ces principes actifs.
4. Structure implantable selon la revendication 3, dans laquelle le principe actif est un anesthésique local.
- 25 5. Structure implantable selon l'une des revendications 1 à 4, qui se présente sous la forme de fil, de film, de jonc, de ruban, de mèche, de tissu tissé ou non-tissé, de plaque, de cathéter, de comprimé, de tablette ou encore de fil de suture.
- 30 6. Structure implantable selon l'une des revendications 1 à 4, qui se présente sous la forme de structure sandwich.

7. Procédé de fabrication d'une structure implantable pour la libération prolongée et contrôlée d'un principe actif, constituée d'un support biorésorbable et d'un principe actif, dans laquelle le principe actif est intimement associé au support, et dans laquelle le support biorésorbable est formé d'un matériau qui comprend un polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique à titre de composant principal et qui a une Tg inférieure ou égale à 15°C, qui comprend les étapes suivantes :

- un mélange des produits composant la structure,
- un passage partiel ou total du mélange ainsi obtenu à l'état liquide et/ou visqueux, avec ou sans pression appliquée, dans une chambre de transfert, et
- une mise en forme de la structure implantable sous pression à partir de cet état intermédiaire.

8. Procédé selon la revendication 7, qui comprend en outre d) une étape de traitement thermique.

15 9. Procédé selon la revendication 7 ou 8, dans laquelle l'étape b) est réalisée à une température comprise entre la température de fusion du principe actif et la température de transition vitreuse ou de fusion du polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique.

20 10. Procédé selon la revendication 7 ou 8, dans laquelle l'étape b) est réalisée à une température supérieure à la fois à la température de fusion du principe actif et à la température de transition vitreuse ou de fusion du polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique.

25 11. Procédé selon l'une des revendications 7 à 10, qui est un procédé de moulage par compression-transfert, de moulage par injection transfert, d'extrusion ou de filage avec étape préliminaire de transfert.

30 12. Procédé selon l'une des revendications 7 à 11, dans lequel le mélange des produits obtenu à l'étape a) est broyé jusqu'à obtenir une granulométrie comprise dans la gamme de environ 5 à 150 µm, de préférence de environ 10 à 50 µm.

13. Procédé selon l'une des revendications 7 à 12, dans lequel le polyester aliphatique d'intérêt thérapeutique est choisi parmi les poly( $\alpha$ -hydroxyacides) dérivés d'acide lactique et/ou d'acide glycolique, la poly( $\epsilon$ -caprolactone), ou les mélanges de ces composés.

5

14. Procédé selon la revendication 13, dans lequel le support biorésorbable est formé d'un mélange de copolymère d'acide lactique et d'acide glycolique et de environ 0,5 à 20 % en masse, de préférence de environ 5 à 15 % en masse par rapport à la masse du support, d'un plastifiant biocompatible.

10

15. Procédé selon la revendication 14, dans lequel le copolymère d'acide lactique et d'acide glycolique a un rapport massique entre les unités d'acide lactique et d'acide glycolique compris dans la gamme de environ 80/20 à 20/80, de préférence dans la gamme de environ 70/30 à 30/70, et de préférence encore égal à 50/50.

15

16. Procédé selon la revendication 14 ou 15, dans lequel le plastifiant biocompatible est choisi parmi l'acide lactique, un oligomère d'acide lactique, ou un mélange de ces composés.

20

17. Procédé selon la revendication 13, dans lequel le support biorésorbable est formé d'un mélange de poly( $\epsilon$ -caprolactone) et d'une quantité pouvant aller jusqu'à 20 % en masse, de préférence comprise dans la gamme de 2 à 10 % en masse par rapport à la masse du support, d'un matériau hydrosoluble.

25

18. Procédé selon l'une des revendications 7 à 17, dans lequel le principe actif est choisi parmi les anesthésiques locaux, les antalgiques morphiniques ou non morphiniques, les facteurs de cicatrisation, les anti-inflammatoires, les antibiotiques, les anti-fongiques, les corticoïdes, les hormones, les antimitotiques, les facteurs de croissance, ou un mélange de ces principes actifs.

30

19. Procédé selon la revendication 18, dans lequel le principe actif est un anesthésique local.

1/10

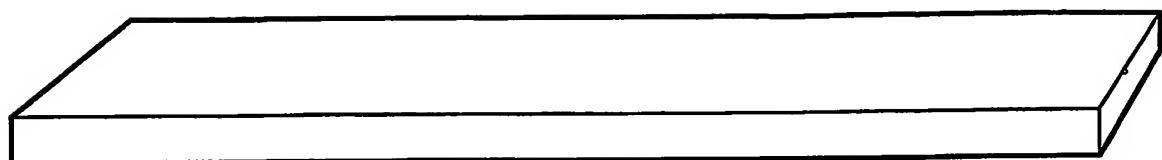


FIG. 1A



FIG. 1B



FIG. 1C

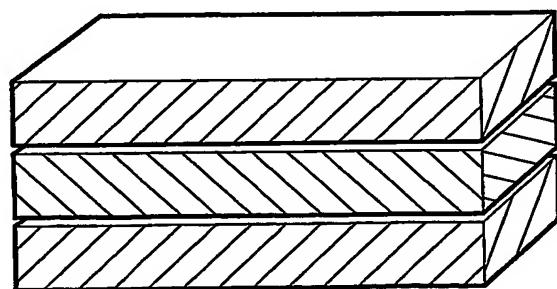


FIG. 2

2/10

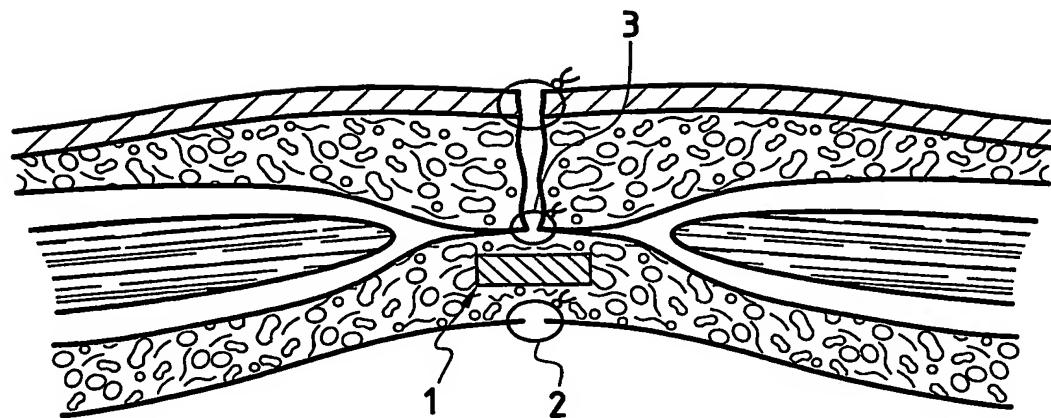


FIG.3

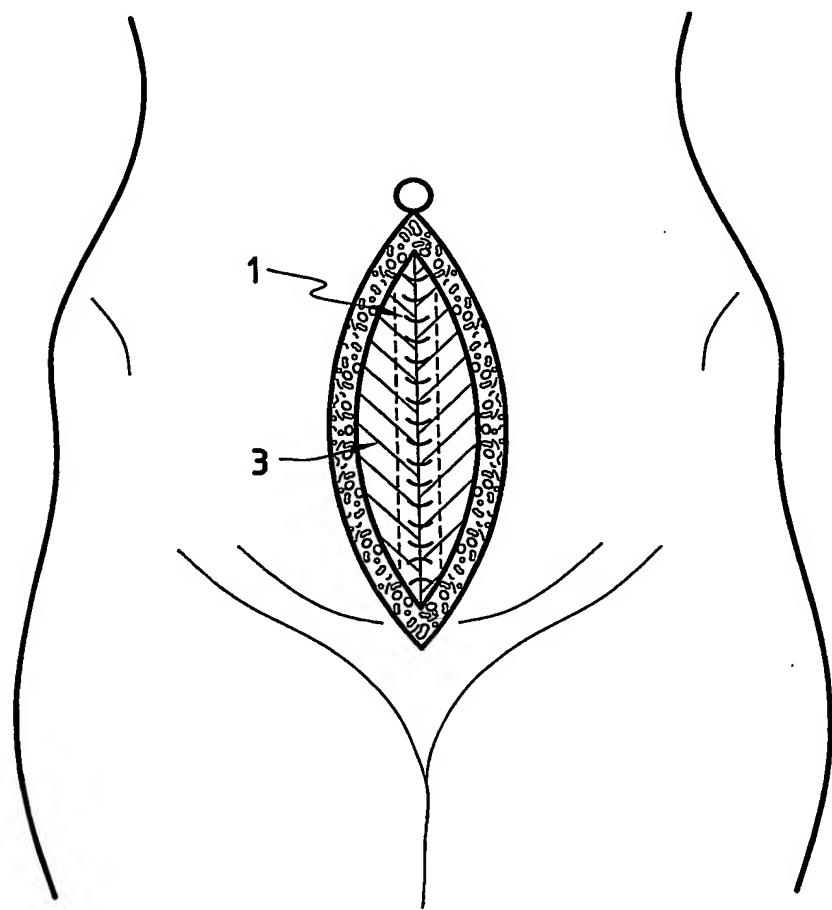


FIG.4

3/10

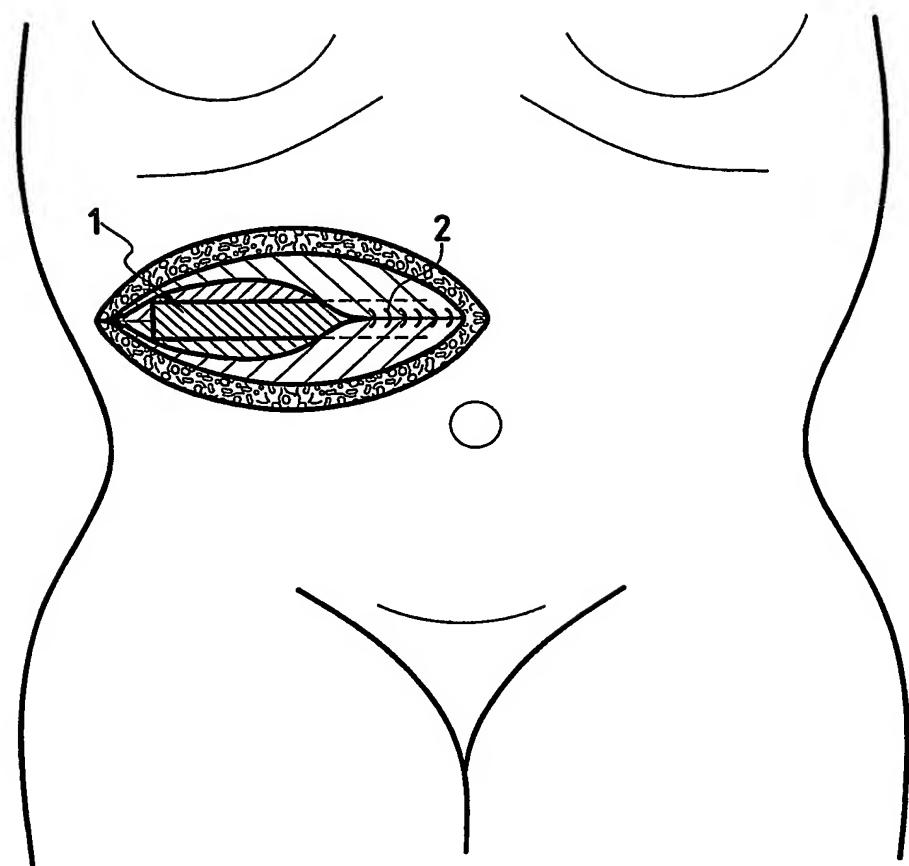


FIG.5

4/10

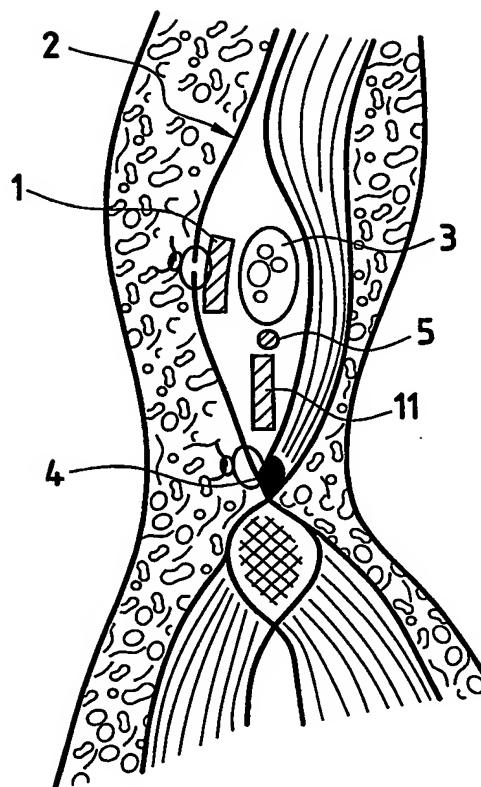


FIG.6

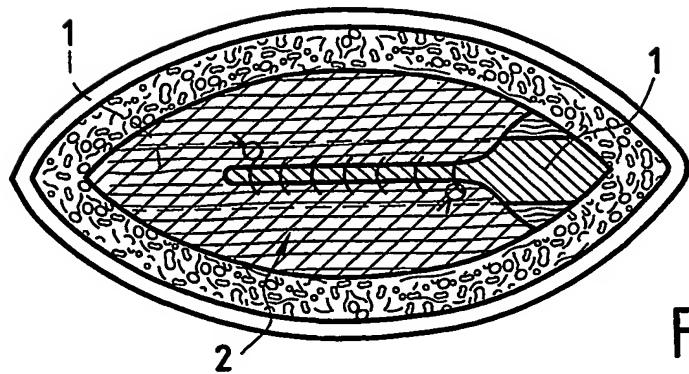


FIG.7

5/10



FIG.8A

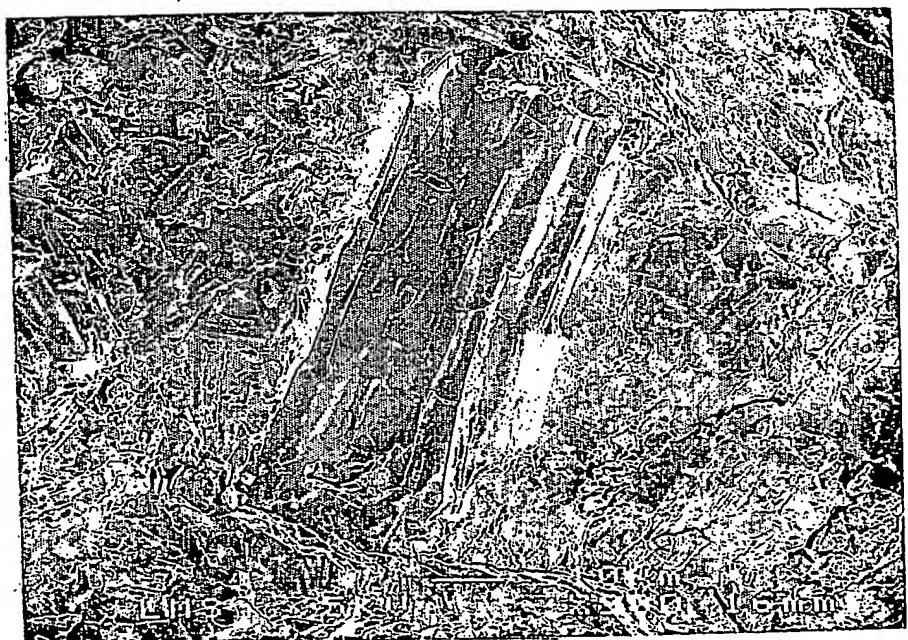


FIG.8B

6/10



FIG.9A

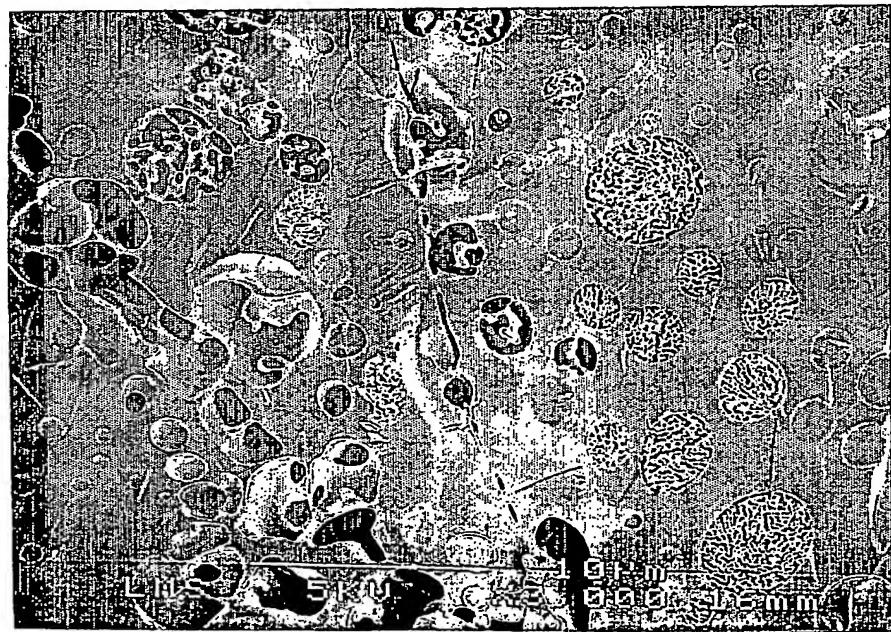


FIG.9B

7/10

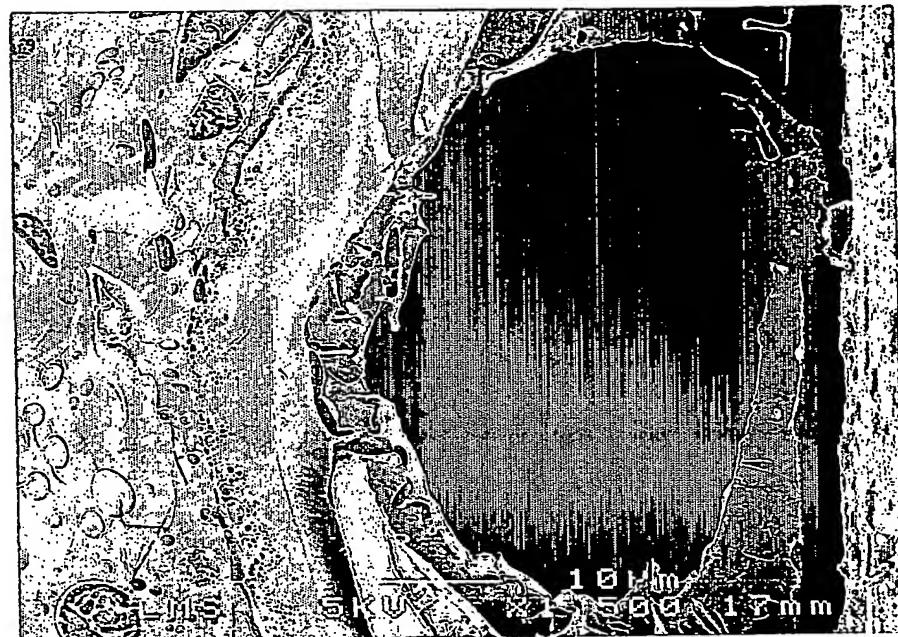


FIG.10

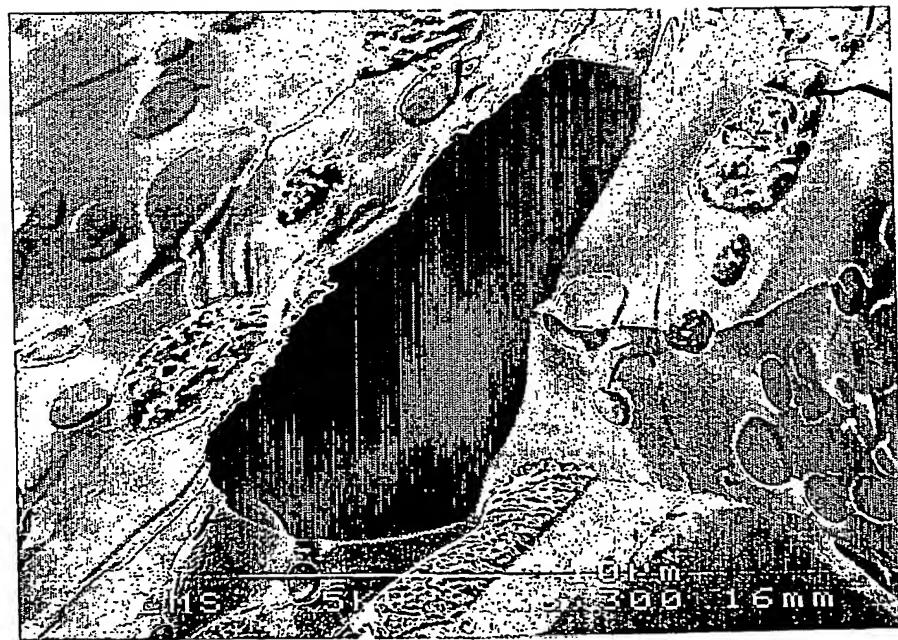


FIG.11

8/10

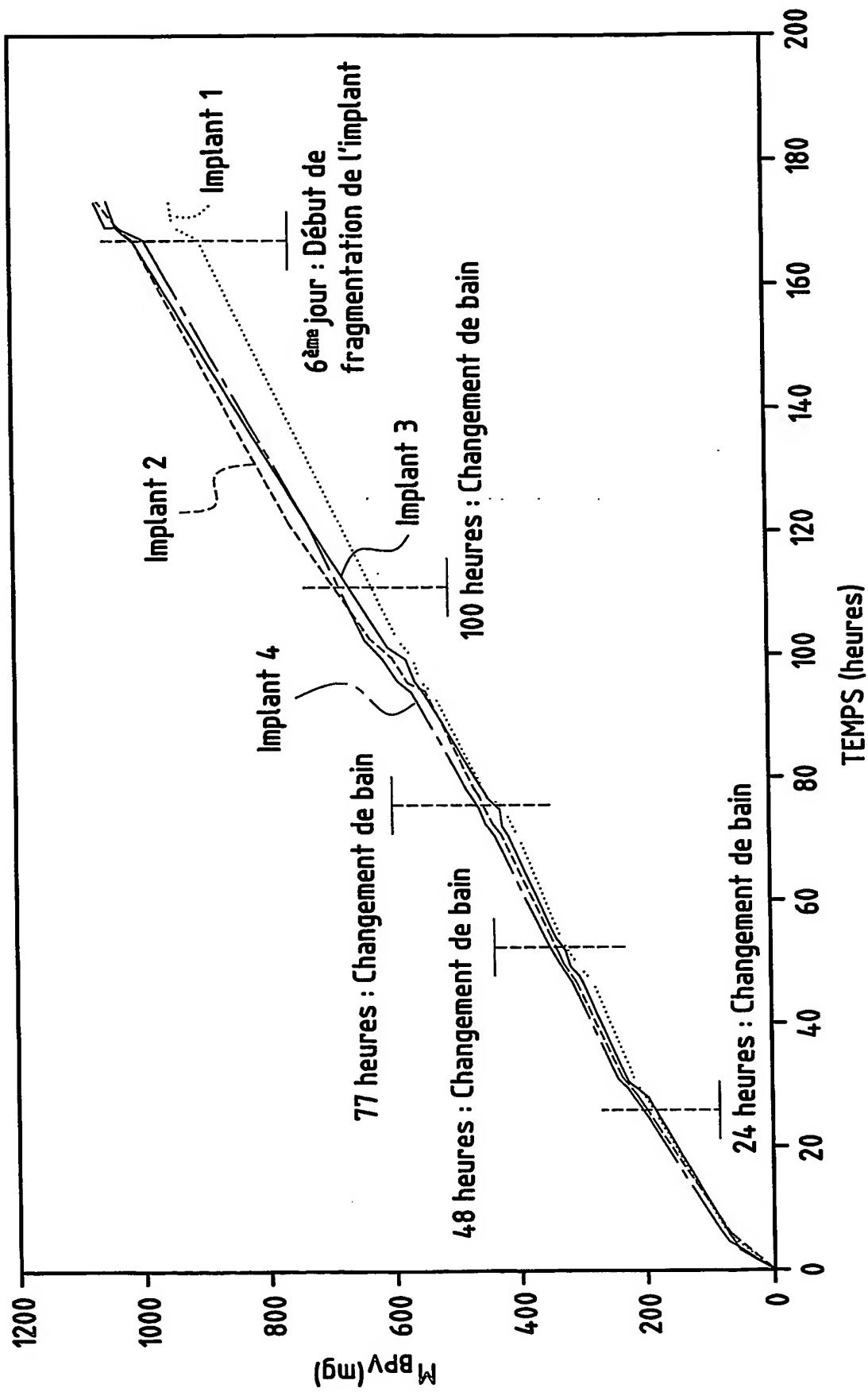


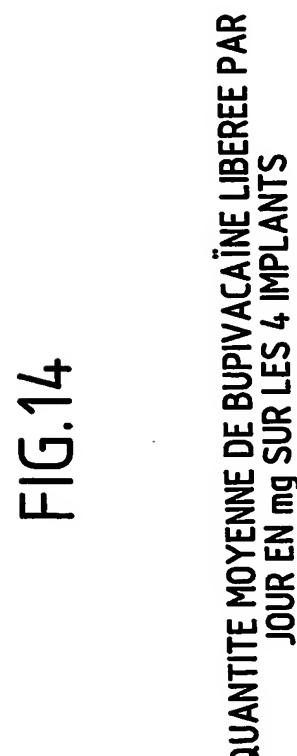
FIG.12

9/10

FIG.13

## TEST DE DISSOLUTION PLAGA 50 / BPV 50





10/10